Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Untersuchungen über Glycylglycin-Dipeptidasen im Ovar

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Bouzardjomehr Behrouzi

aus Kerman/Iran

1963

7780

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Untersuchungen über Glycylglycin-Dipeptidasen im Ovar

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Bouzardjomehr Behrouzi
aus Kerman/Iran

1963

Dekan: Professor Dr. Dr. E. Fröhlich
1. Berichterstatter: Dozent Dr. G. Jung
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Roemer

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Proteolytische Fermente im Ovar	2
1. Corpus luteum	2
2. Gesamtovar	3
3. Liquor folliculi	3
4. Ovarialcysten	4
Andere Enzyme im Ovar	4
Eigenschaften der Dipeptidasen	6
Eigene Untersuchungen	8
Gewinnung der Fermentlösungen	8
Bestimmungsmethode für Glycylglycin-Dipeptidase	10
Eichkurve	13
Ergebnisse	13
Schweineovar	14
Corpus luteum	14
Liquor folliculi	21
Menschliches Ovar	27
Diskussion	38
Zusammenfassung	40
Literaturverzeichnis	41
Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549606_0075

EINLEITUNG

Im Eierstock des Schweins konnten von JUNG, HELD, A. und E. KIDESS (23, 25) proteolytische Enzyme sowohl im Liquor folliculi als auch im Gesamtovar und im Corpus luteum nachgewiesen werden. Die Aktivität der Endopeptidasen, vor allem des Kathepsins war im Ovar außerordentlich hoch und übertraf Aktivitäten anderer Organe (JUNG und NÜSSLEIN (27)). Auffallend war besonders, daß das Corpus luteum eine Kathepsinaktivität zeigte, die mit über 60 000 γ Tyrosin/mg N/St erheblich höher war, als in Placenta, Niere, Milz und Hypophyse.

Diese Ergebnisse veranlaßten JUNG (20) die Arbeitshypothese aufzustellen, daß zwischen den Gonadotropinen der Hypophyse und der proteolytischen Enzymaktivität des Eierstocks ein Zusammenhang bestehen könnte.

In weiteren Versuchen sollte geklärt werden, ob auch Exopeptidasen im Ovar vom Menschen und Schwein nachzuweisen sind und ob die Aktivität dieser Enzyme, wenn sie vorhanden sind, ähnlich wie die Aktivität der Endopeptidasen im Eierstock außergewöhnliche Höhen erreicht. Für Phophatasen konnte JUNG mit A. KIDESS (24) schon nachweisen, daß dieses Enzym im Corpus luteum des Schweins keine außergewöhnliche Aktivität ergibt, sondern etwa gleich hoch wie in verschiedenen anderen Organen ist. Auch im menschlichen Ovar ist die Aktivität der Phosphatasen nicht so hoch, wie die der Proteinasen. Dies konnte von JUNG und SCHMID (26) in den verschiedenen Funktionsstufen des Eierstocks nachgewiesen werden.

Unsere Aufgabe war es, im Schweineovar die Aktivität einer Exopeptidase, nämlich der Glycylglycindipeptidase zu prüfen. Dabei sollten vor allem der Liquor folliculi und das Corpus luteum untersucht werden. Gleichzeitig konnte auch in einigen menschlichen Ovarien die Dipeptidaseaktivität beurteilt werden. Dadurch war es möglich, einen Vergleich zwischen den menschlichen und tierischen Organen durchzuführen, wie dies schon bei früheren Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe für Kathepsin (20), saure und alkalische Phosphatase (24, 25) und Adenosintriphosphatase (26) geschehen ist.

PROTEOLYTISCHE FERMENTE IM OVAR

I. Corpus luteum

Von JUNG und A. KIDESS (24) liegen ausführliche Untersuchungen über Endopeptidasen des Corpus luteum vor. Von ihnen wurde festgestellt, daß das Corpus luteum des Schweins eine Kathepsinaktivität enthält, die bisher in keinem anderen untersuchten Gewebe nachgewiesen wurde. Sie konnten außerdem nachweisen, daß sowohl die Höhe der Kathepsinaktivität als auch die Verteilung des Enzyms in den Zellanteilen zwischen Corpus luteum und Corpus rubrum erhebliche Veränderungen zeigt.

Im menschlichen Corpus luteum fand JUNG (20) ähnliche Verhältnisse wie beim Schwein, nur ist hier die Aktivität deutlich niedriger. Auch die Aktivität im Gesamtovar vom Schwein ist höher als die Aktivität im menschlichen Eierstock. JUNG und KIDESS (25) konnten noch feststellen, daß beim Schwein verschiedene Funktionsstufen des Eierstocks vorliegen, die sich auch in der Höhe der Enzymaktivität unterscheiden. Weitere Untersuchungen ergaben, daß beim Menschen anscheinend abhängig von der Funktionsfähigkeit und der hormonalen Leistung des Ovars die Aktivität der proteolytischen Enzyme unterschiedlich ist, sodaß das Menopause-Ovar eine außerordentlich niedrige proteolytische Aktivität zeigt (20, 22). Auch in verschiedenen pathologischen Zuständen des Ovars konnten von JUNG (20) nachgewiesen werden, daß eine unterschiedliche Aktivität der Enzyme des Eiweiß-Stoffwechsels vorliegt.

Auch FUHRMANN (14) hat kürzlich bei Vergleichsuntersuchungen zwischen menschlichem Endometrium und an anderen Teilen des Genitalapparates, im Corpus luteum des Menschen eine Endopeptidaseaktivität festgestellt. Dieses Kathepsin liegt in seiner Aktivität im Corpus luteum significant höher als in anderen Anteilen der weiblichen Genitalorgane. Im Corpus luteum graviditatis ist die Aktivität höher als im Corpus luteum menstruationis. Nach Ansicht von FUHRMANN (14) kann die hohe Aktivität im Corpus luteum durch den ebenfalls außerordentlich hohen Ascorbinsäuregehalt erklärt werden, da diese als Aktivator des Kathepsins wirken könnte.

Exopeptidasen zeigen dagegen im Corpus luteum nach FUHRMANN (12) keinen erheblichen Unterschied gegenüber diesen Enzymen in anderen Geweben des Genitalorganes. Ausgenommen hiervon ist eine Tripeptidase, die aber wahrscheinlich zum Kathepsinkomplex gehört.

II. Gesamtovar

Erste Untersuchungen über die proteolytischen Enzyme des Eierstocks sind wesentlich älteren Datums und zum Teil mit Methoden durchgeführt, die heute überholt sind. So soll nach ERPF-LEFKOVIS und ROSENBLOOM (4) zur Zeit der Gravidität eine alkalische Protease von außerordentlicher Aktivität im Ovar auftreten.

Schon 1910 haben KNOBLAUCH und LOEB (30) im Ovarialgewebe ein eiweiß-spaltendes Ferment nachweisen können, da das Ovarialgewebe aus Seitenpepton Tyrosin abtrennte. Sie haben dieses Ferment in Beziehung zum Follikelsprung gebracht.

Zwei Jahre später konnten LOEB und GUTMAN (35) in Trockenpulver von Schweineovarien ein "pepsinähnliches Ferment" und ein "tryptisch wirksames Ferment" nachweisen. Die Pepsinwirkung wurde von ihnen durch Kaseinverdauung und anschließende Bestimmung der freien NH-Gruppen mit Hilfe der Kjedahl-Methode festgestellt. Das "tryptische" Enzym wurde durch Tyrosinabspaltung auf Seitenpepton nachgewiesen.

Wie JUNG und E. KIDESS (25) feststellten, finden sich im Schweineovar und im menschlichen Eierstock eine hohe proteolytische Aktivität; diese beträgt aber nur etwa 1/10 der Aktivität des Corpus luteum.

III. Liquor folliculi

Im Liquor folliculi hat SCHOCHET (1920) (46) erstmals proteolytische Enzyme feststellen können und die Ansicht vertreten, daß diese für den Follikelsprung mit verantwortlich sein könnte. Er wies ein "Erepsin"-ähnliches Ferment durch Inkubation von Muskelstückchen und Bindegewebe mit Follikelflüssigkeit aus Schweineovarien nach.

20 Jahre später hat PETRY (40,41) in ähnlichen Untersuchungen proteolytische Substanzen im Follikel von Schweine- und Rinderovarien nachgewiesen.

Auch PETRY (41) wollte durch seine Untersuchungen eine Erklärung für den Follikelsprung finden. Deshalb hat er als Substrat für seine Fermentuntersuchungen die verschiedenen Schichten der Follikelwand, Bindegewebe aus

der Umgebung des Follikels und die Kuppe des Follikels, aus welchem er den Liquor gewonnen hat, verwendet. Nach seinen Angaben wurde vor allem die Follikelkuppe von den proteolytischen Enzymen des Liquor folliculi angegriffen, sodaß er in den Kuppen das spezifische Substrat der Proteasen der Follikelflüssigkeit sah.

Mit neueren Methoden wurden erst vor kurzem von JUNG und HELD (23) im Liquor folliculi proteolytisch wirksame Enzyme festgestellt. Die Autoren fanden im stark sauren Bereich eine auffällig hohe Eigenaktivität des Liquors, die bei pH 1,6 rund 50% betrug und die zum Neutralpunkt hin abnimmt. Die höchste spezifische Aktivität findet sich im Liquor bei pH 3,5 wie dies schon für das Gesamtovar und auch im Corpus luteum nachgewiesen werden konnte. Im Liquor folliculi fand sich aber auch eine leichte Enzymaktivität im alkalischen Bereich bei pH 7,2, die im Ovar und im Corpus luteum nicht nachgewiesen werden konnte.

IV. Ovarialcysten

In Pseudomuzincysten konnten von TACHIBAMA (43,44) zwei proteolytische Enzyme nachgewiesen werden. Das eine davon war im stark sauren Bereich, das andere im alkalischen Bereich wirksam. Seine Versuchsergebnisse werden allerdings von PETRY (40) angezweifelt, da dieser sie nicht bestätigen konnte.

ENZYME ANDERER WIRKSAMKEIT IM OVAR

Außer den proteolytisch wirksamen Enzymen konnten LOEB und GUTMANN (1912) (35) bei ihren schon erwähnten Versuchen mit Trockenpulver vom Schweineovar eine Katalase und ein "Diastase" feststellen. Auch eine Lecithinase wurde von ihnen nachgewiesen.

Durch histochemische Untersuchungen ist es verschiedenen Forschern gelungen, vor allem alkalische Phosphatase im Eierstock darzustellen.

So fanden MOSS, WRENN und SYKES (38) im Rinderovar alkalische Phosphatase, vor allem in der Wand kleiner Folikel, dagegen zeigte das Epithel größerer Follikel nur in der Gegend des Eihügels eine Phosphatase-Reaktion.

Nach WIMSATT (45) enthält das Ovar der Fledermaus alkalische Phosphatase vor allem in der Thecazelle und in den Endothelzellen des Corpus luteum. In den Granulosazellen der Graaf'schen Follikel konnte er dagegen keine Phosphatasereaktion feststellen.

Weitere Nachweise von alkalischer Phosphatase sind noch von DEANE, CORNER und GENESI (3) erbracht worden.

Eine Phosphoamidase konnte von NEUMANN, OEHLERT und HAUSMANN (39) im Stroma, in den Keimbläschen, in den Granulosazellen und im Corpus luteum nachgewiesen werden.

FORAKER und Mitarbeiter (6-9) fanden, daß die histochemisch festzustellenden Dehydrogenasen des Corpus luteum von der Hormonproduktion abhängig waren.

Von KÖNIG und STIER (32) konnte im Corpus luteum graviditatis und im Ovar unspezifische Esterasen und Cholinesterasen histochemisch in den endokrinen aktiven Formationen der Granulosa und Theca der Tertiär- und Graaf'schen Follikel, in den Corpora lutea, sowie in den Hiluszellen nachgewiesen werden. Die Autoren schließen daraus, daß die Enzyme am Stoffwechsel der Steroidhormone beteiligt sind. Im Schwangerschaftsgelbkörper fanden KÖNIG und UHSADEL (33) eine steigende Aktivität der alkalischen und sauren Phosphatase bis zum 50.-60. Tag post ovulationem. Bei Gelbkörpern von Tubargraviditäten könnte auf Grund von intensiveren Reaktionen der Phosphatasen auf Regressionsprozesse geschlossen werden (KÖNIG und MAHARAJ (31)).

JUNG und Mitarbeiter (23, 26) haben im Liquor folliculi saure und alkalische Phosphatase, Lipasen und Esterasen nachgewiesen. Auch im Gesamtovar und im Corpus luteum wurden verschiedene Phosphatasen von dieser Arbeitsgruppe festgestellt.

Die Aktivität der Phosphatasen liegt nach Ansicht von JUNG und Mitarbeitern (24, 26) im Ovar etwa im Bereich der Aktivität derselben Enzyme in anderen Organen. Eine besondere Aufgabe der Phosphatasen im Ovar kann nach diesen Ergebnissen nicht angenommen werden.

EIGENSCHAFTEN DER DIPEPTIDASEN

Die Dipeptidasen gehören zu der Gruppe der Exopeptidasen. Früher wurde allgemein angenommen, daß die Dipeptidasen für ihre Wirksamkeit nur die Anwesenheit von Carboxyl-Gruppen und Amino-Gruppen neben der zu spaltenden Peptid-Bindung im Substrat benötigen, also spezifisch auf die Spaltung aller Dipeptide eingestellt sind. Heute wird aber die Existenz derartiger Gruppen-spezifischer Dipeptidasen allgemein angezweifelt. Hingegen konnte gezeigt werden, daß es spezifische Dipeptidasen gibt, also Fermente, die nur bestimmte Dipeptide hydrolysieren (16, 19).

SMITH (42) konnte zum Beispiel 1948 nachweisen, daß in tierischen Geweben Fermente vorkommen, die spezifisch Glycylglycin und das nahe verwandte Sarcosylglycin angreifen und hydrolysieren, aber sonst kein anderes Dipeptid. Diese Fermente werden als Glycylglycin-Dipeptidasen bezeichnet und brauchen für ihre Aktivität das Vorhandensein von Co^{++}, das unter Umständen auch durch Mn^{++} zu ersetzen ist. Das pH Optimum für die Wirkung dieses Enzyms liegt bei 7,6.

Es gibt eine Reihe bis jetzt erforschter jeweils für bestimmte Peptide spezifisch eingestellte Dipeptidasen (42).

1. Glycylglycin Dipeptidase.
2. Glycyl-l-leucin-Dipeptidase, die durch Mangan (Mn^{++}) beim Kaninchen-Muskel und durch Zn^{++} (im menschlichen Uterus und im Rattenmuskel) aktiviert wird.
3. L-cysteinyl-glycin-Dipeptidasen.
   Diese wurde von BINKLEY (2) eingehend untersucht. Dieser ist der Ansicht, daß dieses Enzym kein Protein ist, sondern ein Polynukleotid darstellt. Das pH-Optimum beträgt 8,1. Aktivatoren sind Mn^{++}, Co^{++} und Fe^{++}.
4. L-alanyl-glycin-Dipeptidase und Glycyl-l-alanin-Dipeptidase.
   Diese beiden Enzyme sollen nach SMITH und BERGMANN (42, 1) in der Darmschleimhaut vorhanden sein. Sie sind anscheinend sehr labil. Über die Isolierung ist noch nichts berichtet.
5. Glycyl-l-prolin-Dipeptidase (Prolidase) nach BERGMANN und FRUTON (1).
   Für die Wirkung des Fermentes ist eine freie Aminogruppe in Nachbarschaft der gespaltenen Peptid-Bindung erforderlich. Das pH-Optimum liegt bei 7,7. Das Enzym wird spezifisch durch Mn^{++} aktiviert. Mg^{++} ist ohne Wir-

kung, während Co^{++}, Cn^{++} und Zn^{++} sogar hemmend wirken.

6. L-prolyl-Glycin-Dipeptidase (Prolinase), die GRASSMANN und Mitarbeiter (16, 17) in der Darmschleimhaut, in der Milz und Lunge nachgewiesen haben.

   Diese Dipeptidasen sind spezifisch für die Spaltung der Verbindungen des Typus l-prolyl-Glycin und l-oxyprolyl-glycin.

   Für die Aktivität des Enzyms ist es erforderlich, daß die Aminogruppe des Pyrrolidinkerns frei ist. Das pH Optimum wird mit 7,6 angegeben. Ag-Salze, H_2S und Cyanid hemmen die Fermentaktivität. Es wird aber durch Mn^{++} und Cd^{++} aktiviert. SMITH und Mitarbeitern (42) ist es gelungen, ein Ferment dieser Spezifität aus Schweineovarien zu isolieren, wobei das pH-Optimum mit 9,0 angegeben ist.

NACHWEISMETHODE DER GLYCYLGLYCIN-DIPEPTIDASE

Prinzip: Extrakte aus verschiedenen animalischen Geweben hydrolysieren das einfache Dipeptid "Glycylglycin". Das Enzym wird sehr stark durch Co^{++} und weniger stark durch Mn^{++} aktiviert. Das Enzym wird nachgewiesen durch Titration von freien Carboxylgruppen nach der Methode von GRASSMANN und HEYDE, nach anderen Mikromethoden durch Bestimmung der Vermehrung der Aminogruppen oder auch nach kolorimetrischen Ninhydrin-Methoden.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Unsere Untersuchungen bezogen sich, wie schon erwähnt, auf die Bestimmung der Dipeptidasenaktivität in Follikelflüssigkeit und in Corpus luteum von Schweineovarien und in Gesamtextrakt von menschlichen Ovarien. Es war aus verständlichen Gründen unmöglich, genügend menschliche Ovarien zu erhalten. So dienten uns in der Hauptsache die Ovarien von Schweinen als Enzymlösung. Die Schweineovarien konnten wir vom Schlachthof in Tübingen in beliebiger Menge bekommen.

Gewinnung der Fermentlösungen

1. Tierische Ovarien:

Den auf dem Tübinger Schlachthof frisch getöteten Tieren wurden die Ovarien entnommen und unter Eiskühlung bei Temperaturen bis + 4° transportiert und möglichst gleich verarbeitet.

a) Gewinnung der Follikelflüssigkeit:

Die Ovarien wurden zuerst in gekühlter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann mit Hilfe einer kleinen Kanüle, die an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen war, punktiert. Von 100 g Gewebe wurde rund 30 ml einer gelblich-rötlichen serösen Flüssigkeit gewonnen. Zu Anfang haben wir ohne Rücksicht auf die Größe der einzelnen Follikel der Liquor folliculi mit dieser Methode gewonnen und diesen in verschiedenen Verdünnungen als Enzymlösung verwendet. Später wurde die Größe der Follikel auch mit in Betracht gezogen, in dem wir zwischen kleinen Follikeln (Durchmesser etwa bis 4 mm) und großen Follikeln (Durchmesser etwa über 7-8 mm) unterschieden haben und sie jeweils extra punktiert und für die Versuche verwendet haben. Nur so konnten verschiedene Funktionsstufen des Follikels untersucht werden.

Die Follikelflüssigkeit konnte im Kühlschrank, bei Temperaturen um 0°C bis zu 6 Tagen aufbewahrt werden, ohne daß seine Enzymaktivität eine wesentliche Veränderung durchmachte.

b) Herstellung von Homogenat aus Corpora lutea:

Wir sind bei der Herstellung des Homogenats nach der Methode von LANG und SIEBERT (34) vorgegangen. Bei den Ovarien der älteren Tiere fanden wir stets einige Corpora lutea, deren Gewinnung ziemlich leicht war, da diese sehr leicht zu enucléieren sind.

Nachdem die Corpora lutea möglichst ohne jegliches Bindegewebe mit feiner Schere herausgeschnitten waren, wurden sie gewogen. Danach wurden sie noch, soweit wie möglich, mit der Schere klein geschnitten, dann wurden sie homogenisiert.

Bei der Herstellung von Gewebshomogenaten ist es sehr entscheidend, daß die gesamte Arbeit unter ausreichender Kühlung des verwendeten Gewebes, der benutzten Lösungsmittel und aller Werkzeuge stattfindet. Unter anderen Umständen besteht die Gefahr, daß eine einsetzende Autolyse die Versuchsergebnisse unbrauchbar macht. Die Autolyse ruft am Kern eine Veränderung hervor, die mikroskopisch sehr leicht zu erkennen ist. Dies kann zur Beurteilung der Verwendbarkeit unseres Arbeitsmaterials herangezogen werden.

Der Homogenisator besteht aus einem dickwandigen Glas, in das ein Pistill hineinpaßt, dessen Durchmesser etwa 1/4 mm kleiner ist, als der unterste Anschnitt des Glases. Das Pistill wird durch einen Elektromotor angetrieben und während des Homogenisierens in das Glas auf- und abgeführt. Um eine Erwärmung des Gewebes durch die hohe Umdrehungszahl des Pistills zu vermeiden, darf man das Homogenisieren nicht lange durchführen, wobei noch außerdem durch Zutritt von Luftsauerstoff ein ungünstiger Einfluß auf bestimmte Enzyme ausgeübt werden könnte.

Der gewonnene Gewebsbrei wird mit Hilfe eines Porzellanpistills durch ein Spezialfiltertuch hindurchgetrieben und so von groben Gewebsteilen und Bindegewebe befreit. Das filtrierte Homogenat enthält rund 90 - 95% reine Zellkerne und nur noch einige Bruchstücke von zusammenhängenden Zellanteilen. Dieses Homogenat ist die versuchsbereite Enzymlösung.

Übersicht:

1. Reinigung des Gewebes.
2. Herausschneiden der Corpora lutea.
3. Zerkleinerung mit der Schere.
4. Homogenisierung mit vier Gewichtsteilen 1% KCl-Lösung.
5. Hindurchpressen durch ein Spezialtuch.

2. Menschliche Ovarien:

Die Verarbeitung der menschlichen Ovarien erfolgt im Prinzip nach der gleichen Methode wie bei Tier-Ovarien. Jedoch war es immer nur möglich, einzelne menschliche Ovarien zu untersuchen.

An folgenden menschlichen Geweben konnten wir Untersuchungen durchführen:

1. Gesamtovar praeklimakterischer Frauen.
2. Gesamtovar bei Gravidität mit Collum neoplasma.
3. Ovarialcarcinom.
4. Ovarialcarcinom mit Endoxan vorbehandelt.

Das menschliche Gewebe wurde sofort nach der Entfernung des Ovars bei Operationen unter der üblichen Eiskühlung verarbeitet und die daraus gewonnenen Extrakte wurden für Untersuchungen in tiefgekühltem Zustand bei - 25°C aufbewahrt. Diese Tiefkühlung hat, soweit wir in unseren Untersuchungen feststellen konnten, eine geringe Zunahme der Aktivität im proteolytischen Bereich zur Folge, die aber bei der Auswertung der Versuche außer Acht gelassen werden konnte.

Verwendete Nachweismethode für die Bestimmung der Dipeptidasenaktivität

Bei der Untersuchung der Glycylglycin-Dipeptidasen haben wir uns nach den Angaben von SMITH (42) gerichtet.
Verwendete Reagenzien:

1. Substrat:
   0,125 m Glycylglycin-Lösung (165 mg Glycylglycin werden in 4,2 ml 0,1 NaOH gelöst und dann mit H_2O auf 10 ml aufgefüllt).
2. Puffer:
   0,2 m Tris-Puffer pH 7,6
3. Aktivator:
   0,01 m $CoCl_2$-Lösung.
4. Gesättigte Pikrinsäure zur Unterbrechung der Fermentreaktion.

Der Ansatz setzte sich im einzelnen wie folgt zusammen:

1. 1 ml Substrat
2. 1 ml Puffer
3. 0,25 ml Aktivator
4. 0,25 ml Enzymlösung

Die Inkubation erfolgte im Wasserbad bei 37°C. Nach Inkubationszeiten von 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten wurde aus den Inkubationsansätzen 0,2 ml entnommen und in 10 ml gesättigte Pikrinsäure pipettiert.

Messung des freigesetzten Glycin

Das freigesetzte Glycin wird mit einer kolorimetrischen Ninhydrinmethode nach MOORE und STEIN (37) angefärbt und im Photometer bei Filter S 57 E 55 gemessen.

Für die Messung werden die mit Pikrinsäure abgestoppten Proben filtriert. Vom klaren Filtrat entnimmt man 0,2 ml und versetzt diese mit 1 ml Ninhydrinreagens. Nun wird das Röhrchen verschlossen und 15 Minuten im kochenden Wasserbad erhitzt. Danach wird das Reaktionsgemisch im kalten Wasser abgekühlt und mit 5 ml 50%igem Propanol verdünnt. Jetzt kann im Elko bei Filter S 57 E 55 gegen 0-Wert photometriert werden.

Verwendete Reagenzien:

1. Ninhydrin (Merck)

2. Hydrindantin:
   Zur Herstellung des Hydrindantin werden 0,8 g Ninhydrin in 20 ml H_2O bei 90°C im Wasserbad gelöst. Nach völliger Auflösung gibt man o,8 g Ascorbinsäure in 4 ml H_2O vorsichtig auf die stehende Ninhydrinlösung. Das Glas wird nun stehengelassen und nicht daran gerüttelt, damit möglichst große Kristalle ausfällen. Nun wird das Hydrindantin abfiltriert und gut ausgewaschen und dann im Exikator unter Verwendung von P_2O_5 als Trocknungsmittel unter Lichtabschluß 24 Stunden getrocknet.

3. Natriumacetat-Puffer pH 5,6:
   27,2 g Natriumacetat- 3 H_2O werden in 20 ml H_2O gelöst und dann 5 ml Essigsäure dazugegeben. Mit dem pH-Meter wird auf pH 5,6 eingestellt.

4. Cellosolve

Herstellung des Ninhydrin-Reagens:

0,5 Ninhydrin und 0,075 Hydrindantin werden in 19 ml Collosolve vorsichtig unter Rühren gelöst. Dazu kommen 6,2 ml Acetatpuffer pH 5,6. In brauner Flasche im Dunkeln unter Stickstoff aufbewahren.

EICHKURVE

Um die genaue Spaltung des Glycyglycinmoleküls zu erfassen, wird eine Eichkurve mit Diglycin und Glycinlösung hergestellt. Dabei wird eine 0,001 m Diglycinlösung als Lösung A und eine 0,002 m Glycinlösung als Lösung B verwendet. Durch Mischen von Lösung A und B werden Verhältnisse geschaffen, die einer stufenweisen Spaltung der Diglycinlösung entsprechen.

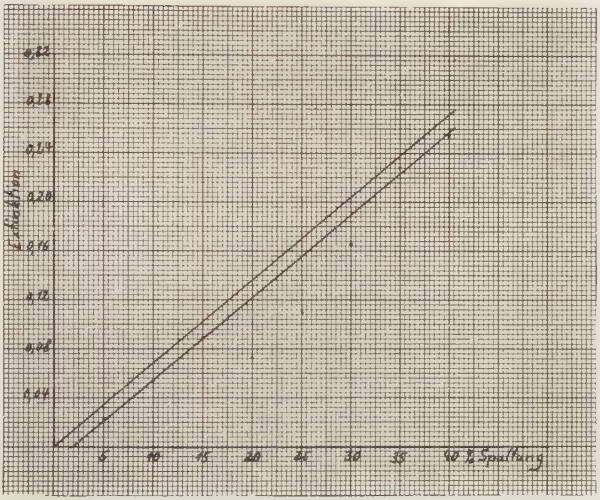
Wir haben für unsere Eichkurve folgende Zusammenstellung durchgeführt:

Spaltung	Anteil Lösung A	Anteil Lösung B
0 %	10 ml	0 ml
5 %	9,5 ml	0,5 ml
10 %	9 ml	1 ml
15 %	8,5 ml	1,5 ml
20 %	8 ml	2 ml
25 %	7,5 ml	2,5 ml
30 %	7 ml	3 ml
35 %	6,5 ml	3,5 ml
40 %	6 ml	4 ml

Von den oben angegebenen Mischungen wurden jeweils 0,2 ml entnommen und mit 1 ml Ninhydrinreagens zur Reaktion gebracht; die gefundenen Extinktionswerte dann in ein Ordinatsystem gegen prozentuale Spaltung bzw. Mole Diglycin aufgetragen.

Unsere Eichkurveiist in Abb. 1 aufgezeichnet.

Abb. 1 Eichkurve für Diglycin



Als Einheit der Dipeptidasenaktivität wurde nach SMITH (42) die Spaltung in Prozent/Minute angenommen.
Als spezifische Aktivität, in der unsere Angaben erfolgen, wird die Spaltung in Einheit / mg Stickstoff der Fermentlösung angegeben. Die Berechnung der spezifischen Aktivität und der Fermenteinheiten erfolgte immer aus drei Meßwerten.

Ergebnisse:

Schweineovar

I. Corpus luteum

1. Versuch: Corpus luteum vom Schwein

4 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,296 mg/N/ml Homogenat

Abb. 2 Verlauf der Reaktionskurve

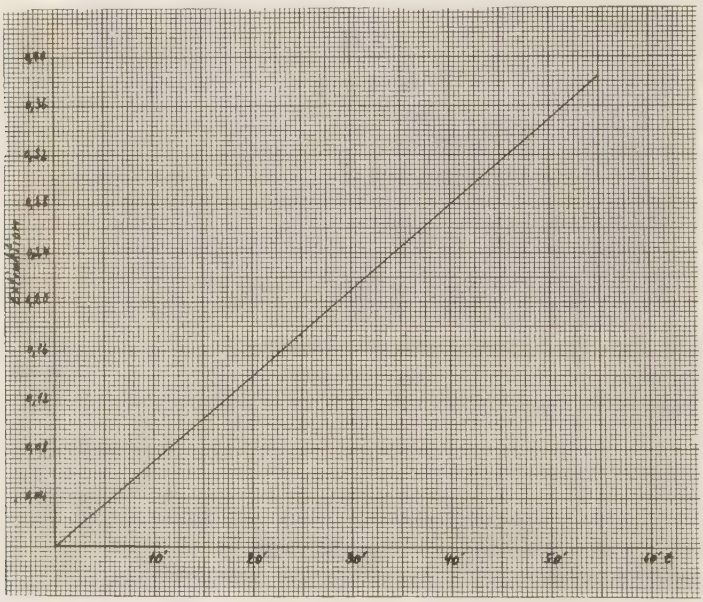


Tabelle 1 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
40	0,265	39	0,975	3,012
50	0,320	46	0,920	2,840
60	0,384	56	0,945	2,920

Mittelwert: 2,924 $\pm$ 0,088

2. Versuch Nr. A Corpus luteum vom Schwein 4 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std. Stickstoffgehalt: 2, 02 mgN/ ml Homogenat

Abb. 3 Verlauf der Reaktionskurve

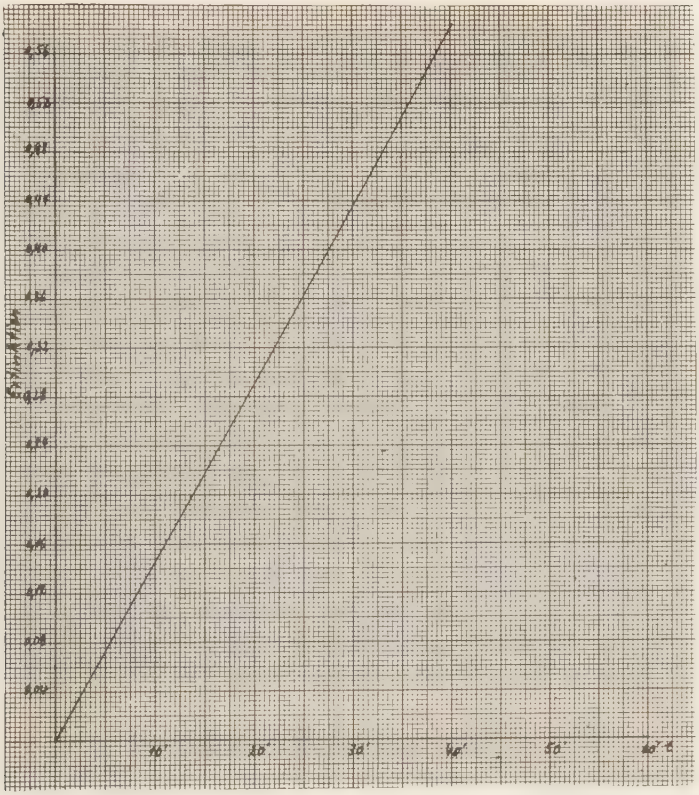


Tabelle 2 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/ min.	% Spaltung / min/ mgN
20	0, 306	44	2, 2	4, 358
30	0, 426	62	2, 067	4, 092
40	0, 585	86	2, 15	4, 256

Mittelwert: 4, 2352 $\pm$ 0, 128

2. Versuch Nr. B Corpus luteum vom Schwein
2% Homogenat in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,01 mgN/ml Homogenat

Abb. 4 Verlauf der Reaktionskurve

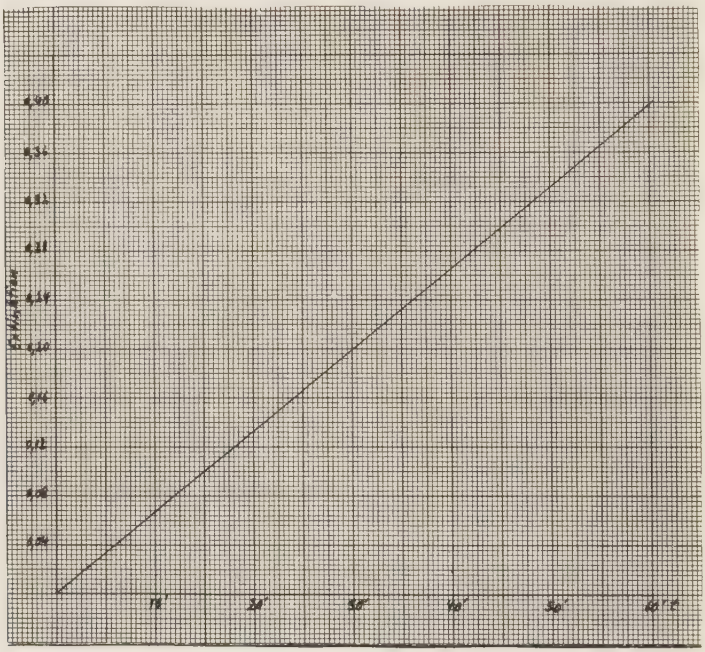


Tabelle 3 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
10	0,084	12	1,2	4,752
30	0,183	27	0,9	3,564
40	0,275	40	1,0	3,960
60	0,441	64	1,07	4,236

Mittelwert: 4,128 $\pm$ 0,708

5. Versuch Nr. C Corpus luteum vom Schwein
4% Homogenat in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,484 mgN/ml Homogenat

Abb. 5 Verlauf der Reaktionskurve

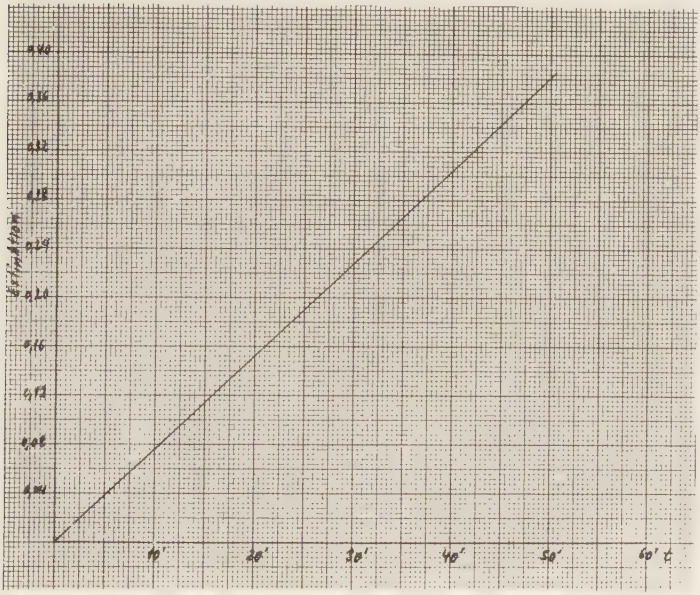


Tabelle 4 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
20	0,153	22,5	1,1250	3,028
30	0,234	34,4	1,1466	2,808
50	0,381	56	1,120	3,016

Mittelwert: 2,948 ± 0,124

6. Versuch Nr. C Corpus luteum vom Schwein
4 % Homogenat in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,48 mgN/ml Homogenat

Abb. 6 Verlauf der Reaktionskurve

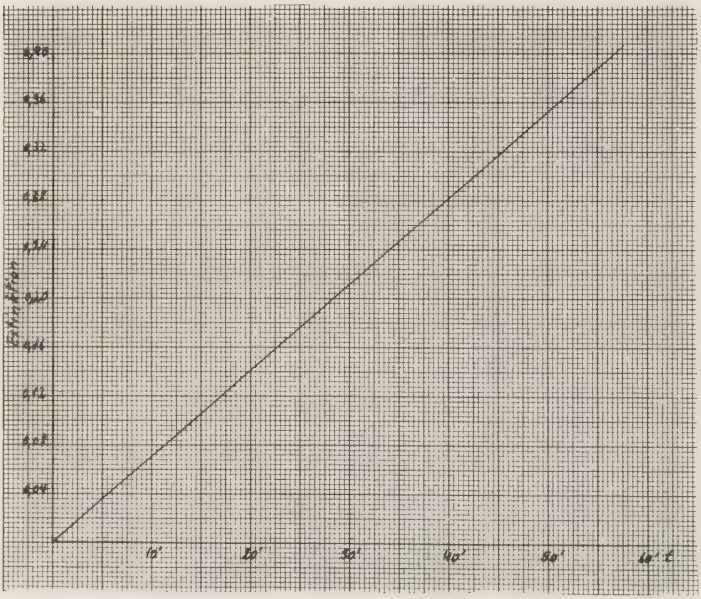


Tabelle 5 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
20	0,14	20,6	1,03	2,780
30	0,21	31	1,033	2,788
40	0,30	43	1,075	2,900
50	0,354	52	1,04	2,808
60	0,40	59	0,983	2,752

Mittelwert: 2,788 $\pm$ 0,0888

6. Versuch Nr. D Corpus luteum vom Schwein
2 % Homogenat in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 0,742 mgN/ml Homogenat

Abb. 7 Verlauf der Reaktionskurve

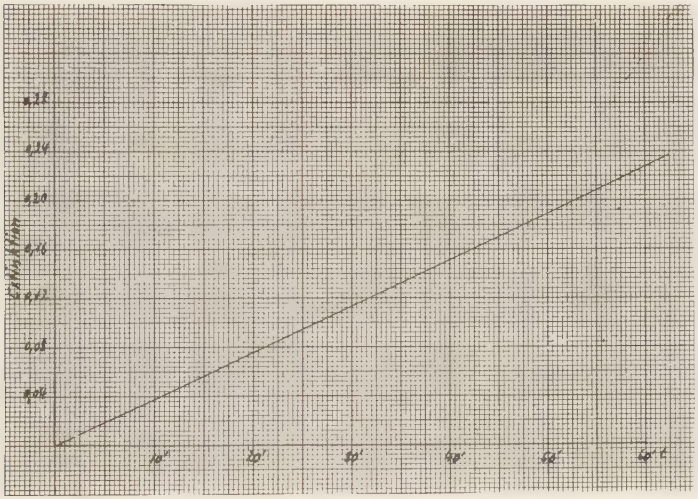


Tabelle 6 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
30	0,11	16	0,533	2,872
40	0,147	21,6	0,54	2,912
50	0,197	29	0,58	3,128
60	0,237	35	0,583	3,144

Mittelwert: 3,014 ± 0,1420

6. Versuch Nr. E Corpus luteum vom Schwein
1% Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 0,371 mgN/ml Homogenat

Abb. 8 Verlauf der Reaktionskurve

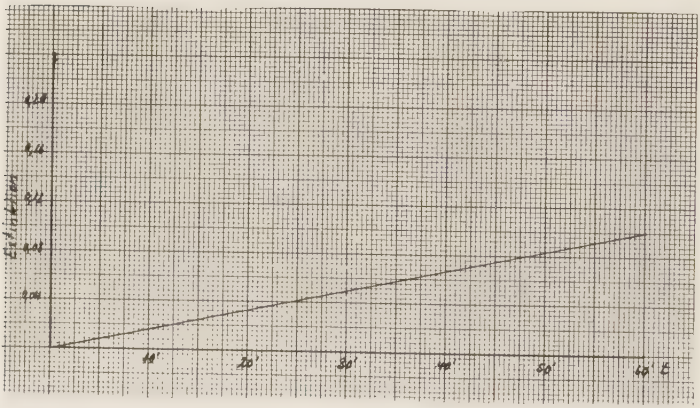


Tabelle 7 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
40	0,066	9,6	0,245	2,608
50	0,085	12,4	0,248	2,624
60	0,098	14,4	0,24	2,592

Mittelwert: 2,608 $\pm$ 0,016

II. Liquor folliculi

a) Kleine Follikel

7. Versuch Nr. A Follikelflüssigkeit vom Schwein
50 % Flüssigkeit in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 4,9 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 9 Verlauf der Reaktionskurve

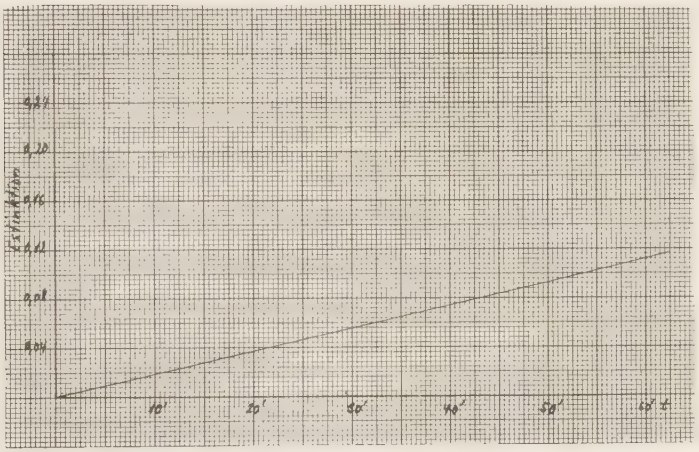


Tabelle 8 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
40	0,066	9,6	0,24	0,196
50	0,094	13,8	0,278	0,224
60	0,126	18,6	0,31	0,252

Mittelwert: 0,224 $\pm$ 0,028

8. Versuch Nr. A Follikelflüssigkeit vom Schwein
50% Flüssigkeit in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 4,9 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 10 Verlauf der Reaktionskurve

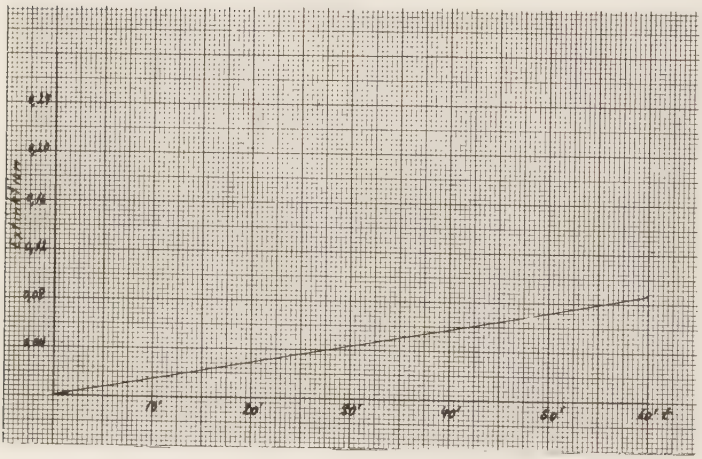


Tabelle 9 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
40	0,057	8,3	0,2075	0,1692
50	0,070	10,2	0,204	0,1664
60	0,088	13,0	0,21608	0,1776

Mittelwert: 0,1712 $\pm$ 0,0060

9. Versuch Nr. A Follikelflüssigkeit vom Schwein
(unverdünnt)
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 9 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 11 Verlauf der Reaktionskurve

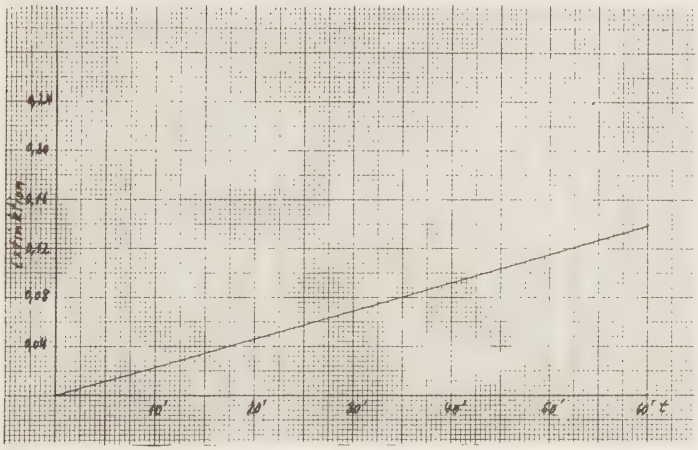


Tabelle 10 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
20	0,045	6,6	0,33	0,132
30	0,063	9,2	0,307	0,124
40	0,088	13,0	0,325	0,132
60	0,158	23,4	0,39	0,156

Mittelwert: 0,136 $\pm$ 0,0136

b) Große Follikel

5. Versuch Nr. B Follikelflüssigkeit vom Schwein
50% Flüssigkeit in 1% KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 5,328 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 12 Verlauf der Reaktionskurve

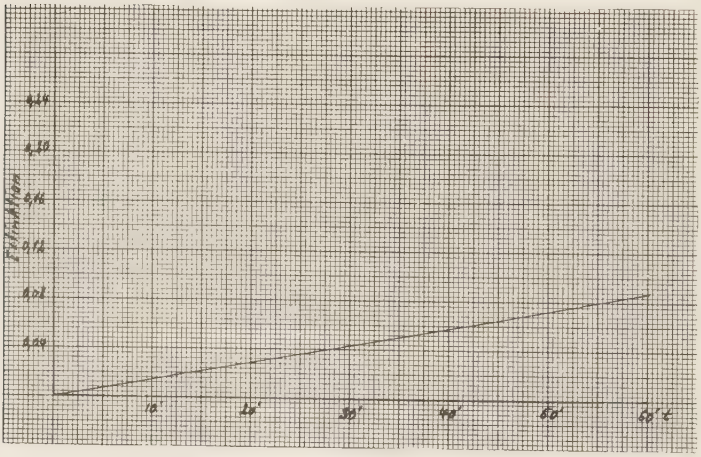


Tabelle 11 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/ min/mgN
10	0,012	1,8	0,18	0,1352
20	0,027	4	0,2	0,1504
50	0,059	8,7	0,174	0,1304
60	0,093	13,7	0,2283	0,1712

Mittelwert: 0,1468 $\pm$ 0,0148

10. Versuch Nr. B Follikelflüssigkeit vom Schwein
50 % Flüssigkeit in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 4,39 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 13 Verlauf der Reaktionskurve

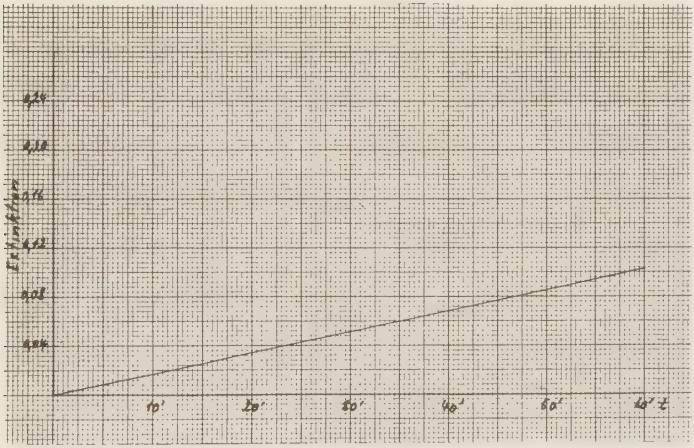


Tabelle 12 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
30	0,044	6,4	0,213	0,194
40	0,065	9,5	0,2375	0,217
60	0,094	13,8	0,23	0,209

Mittelwert: 0,207 ± 0,012

8. Versuch Nr. B Follikelflüssigkeit vom Schwein
50 % Flüssigkeit in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 5,328 mgN/ml Flüssigkeit

Abb. 14 Verlauf der Reaktionskurve

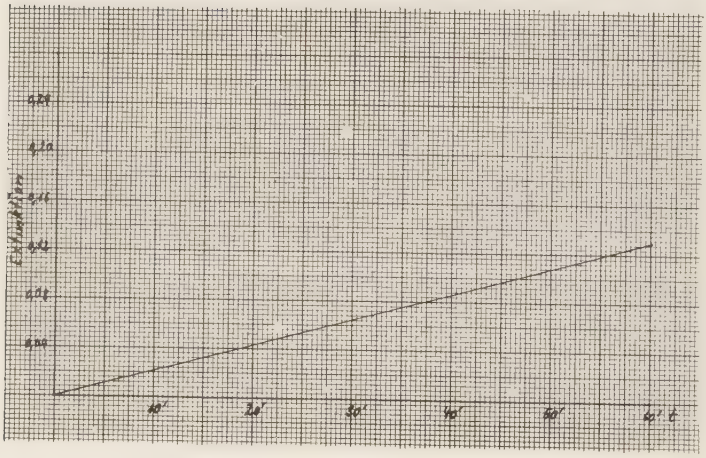


Tabelle 13 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
30	o,071	10,4	0,347	0,260
50	0,098	13,8	0,276	0,208
60	0,130	19,0	0,317	0,240

Mittelwert: 0,236 ± 0,028

Menschliches Ovarium

15. Versuch Nr. A Menschen-Ovar
20 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt; 2,36 mgN/ml Homogenat

Abb. 15 Verlauf der Reaktionskurve

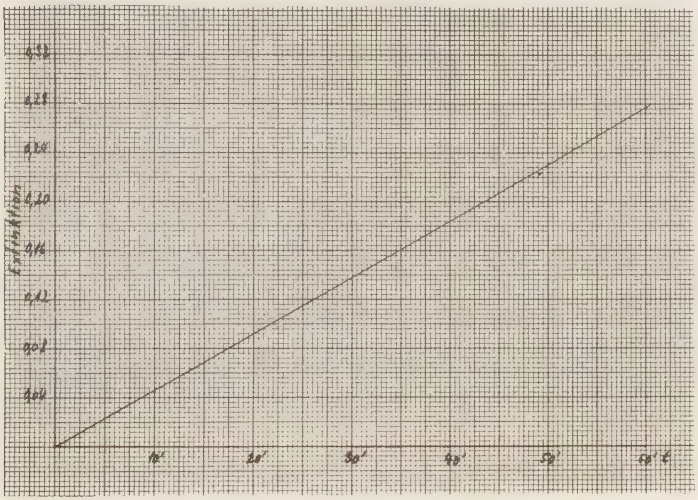


Tabelle 14 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
20	0,09	13	0,65	1,100
40	0,19	28	0,70	1,184
50	0,227	33	0,66	1,116
60	0,283	41	0,683	1,156

Mittelwert: 1,140 $\pm$ 0,0380

15. Versuch Nr. B Menschen-Ovar
10 % Homogeant in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,18 mgN/ml Homogenat

Abb. 16 Verlauf der Reaktionskurve

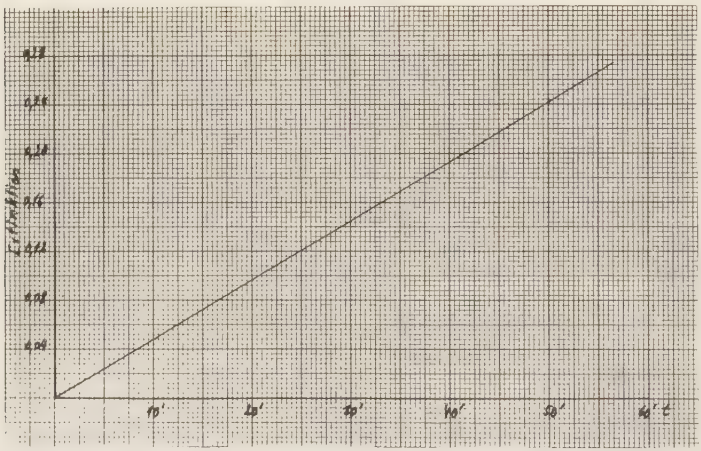


Tabelle 15 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
20	0,10	15	0,75	2,536
30	0,144	21	0,70	2,368
50	0,242	35,5	0,71	2,404

Mittelwert: 2,436 $\pm$ 0,0884

16. Versuch Nr. B Menschen-Ovar
10 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,18 mgN/ml Homogenat

Abb. 17 Verlauf der Reaktionskurve

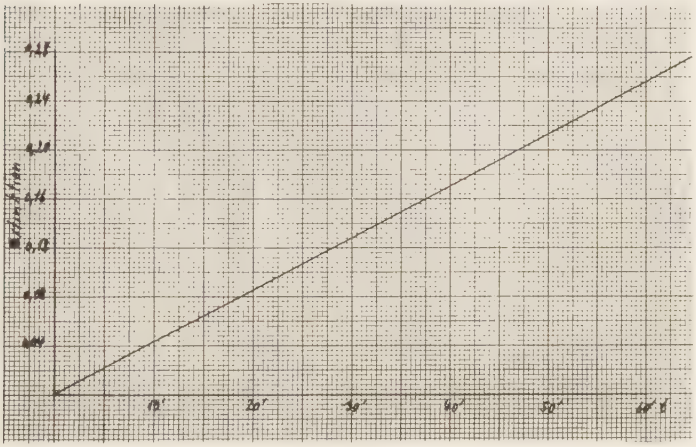


Tabelle 16 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
40	0,169	25	0,625	2,112
50	0,21	31	0,620	2,096
60	0,266	39	0,650	2,200

Mittelwert: 2,136 ± 0,056

16. Versuch Nr. C Menschen-Ovar
5 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt 0,59 mgN/ml Homogenat

Abb. 18 Verlauf der Reaktionskurve

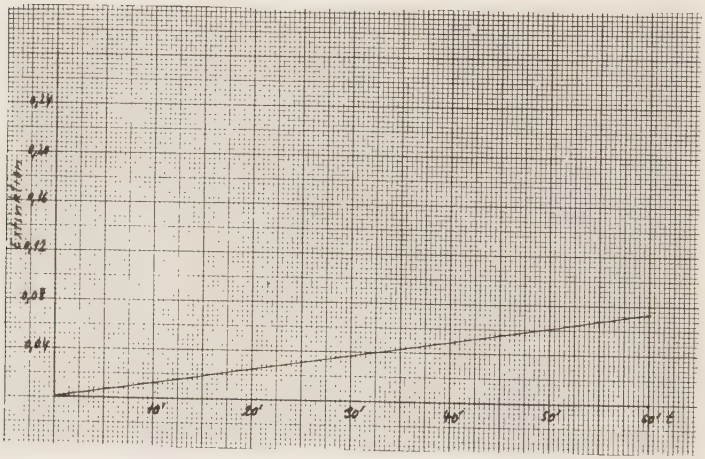


Tabelle 17 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
20	0,024	3,4	0,17	1,152
60	0,075	11	0,183	1,228

Mittelwert: 1,192 ± 0,0540

17. Versuch Nr. A Menschliches Schwangerschaftsovar
bei Ca-Colli uteri
25 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 1,761 mgN/ml Homogenat

Abb. 19 Verlauf der Reaktionskurve

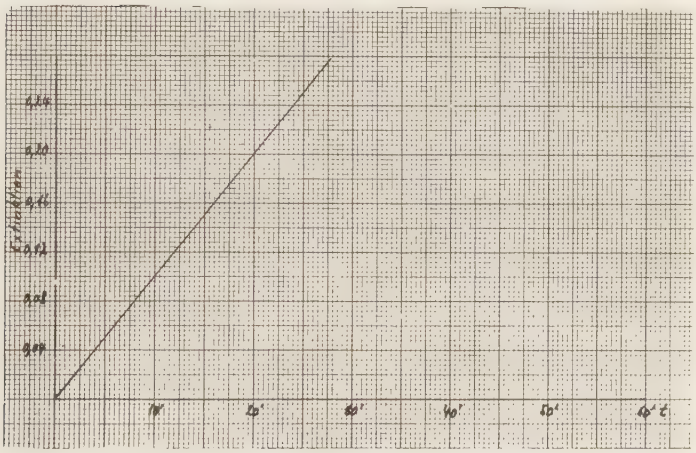


Tabelle 18 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
10	0,113	16,6	1,66	3,780
20	0,189	27,8	1,39	3,168

Mittelwert: 3,476 $\pm$ 0,433

17. Versuch Nr. B Menschliches Schwangerschaftsovar
bei Ca-Colli uteri
12,5 % Homogenat in 1 % KCl
Stickstoffgehalt: 0,88 mgN/ml Homogenat

Abb. 20 Verlauf der Reaktionskurve

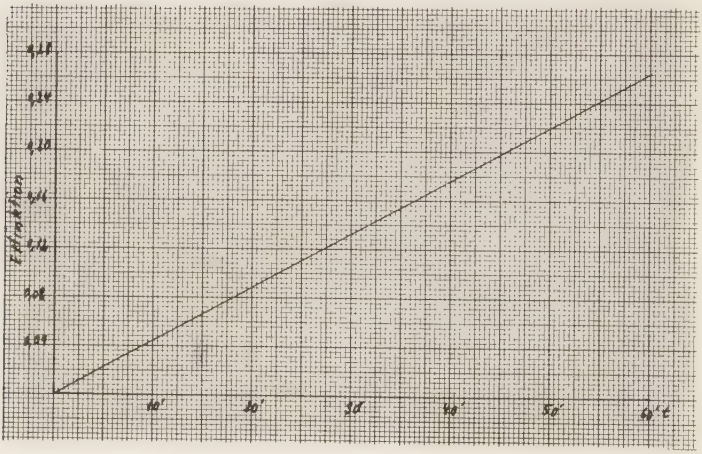


Tabelle 19 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
30	0,131	19,2	0,64	2,92
50	0,240	35,2	0,704	3,28
60	0,250	36,7	0,612	2,788

Mittelwert: 2,996 ± 0,268

20. Versuch Nr. A Menschliches Ovarial-Ca
mit Endoxan und Bestrahlg. vorbehandelt
20 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubation 1 Std.
Stickstoffgehalt: 2,184 mgN/ml Homogenat

Abb. 21 Verlauf der Reaktionskurve

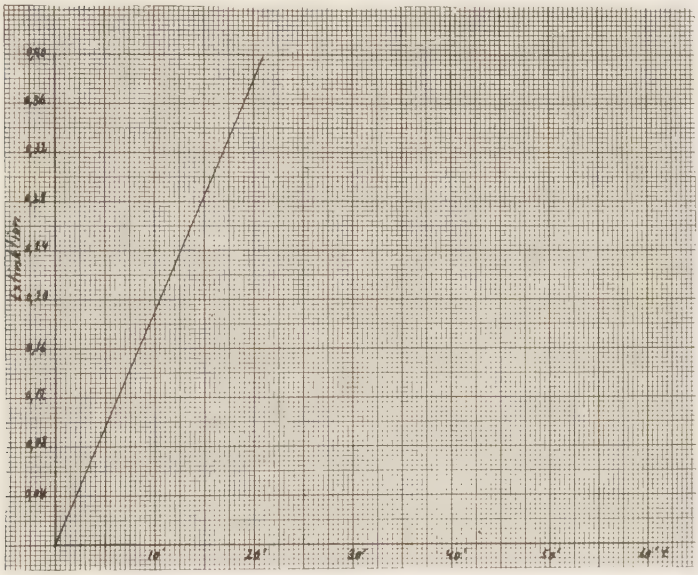


Tabelle 20 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung / min/mgN
10	0,193	28,4	2,84	5,20
20	0,380	56	2,80	5,12

Mittelwert: 5,16 ± 0,056

20. Versuch Nr. B Menschliches Ovarial-Ca.
(m. Endoxan u. Bestrahlg. vorbehandelt)
10 % Homogenat in 1 % KCl
Inkubationszeit 1 Std.
Stickstoffgehalt 1,092 mgN/ml Homogenat

Abb. 22 Verlauf der Reaktionskurve

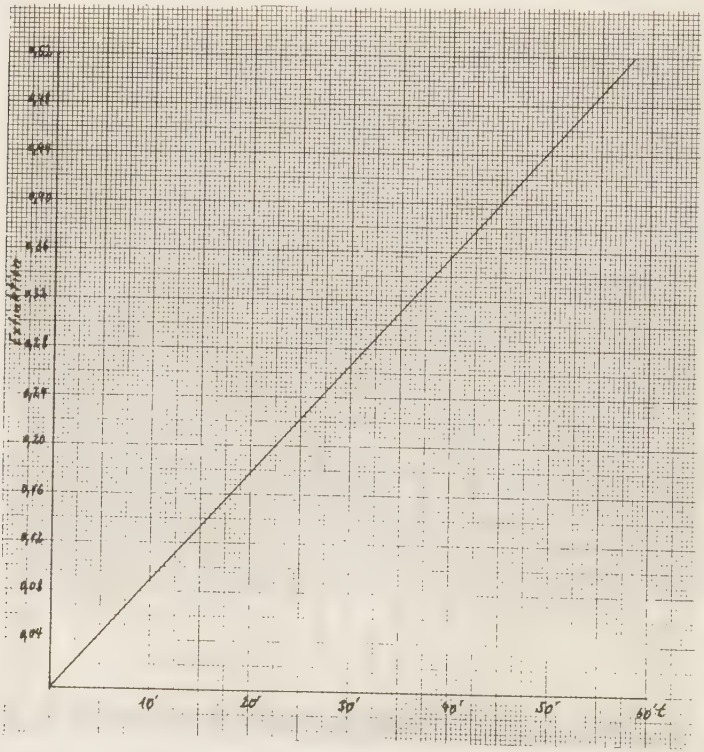


Tabelle 21 Übersicht über die Dipeptidasenaktivität

Zeit	gemessene Extinktionen	% Spaltung	% Spaltung/min.	% Spaltung/min/mgN
10	0,084	12,4	1,24	4,520
20	0,179	26,3	1,315	4,840
40	0,361	52	1,30	4,760
50	0,456	66	1,20	4,400
60	0,508	75	1,25	4,560

Mittelwert: 4,616 ± 0,180

Tabelle 22

Übersicht über die Glycylglycin-Dipeptidasenaktivität im Corpus luteum vom Schwein

Versuch	%Spaltung/ min	mgN/ ml Enzymlösung	Einheiten/ mgN
1	0,945	1,296	2,920
2 A	2,150	2,020	4,240
2 B	1,04	1,010	4,130
3 B	0,662	1,010	2,620
5 C	1,130	1,484	2,950
5 D	0,623	0,742	3,360
6 C	1,032	1,48	2,790
6 D	0,556	0,742	3,010
6 E	0,244	0,371	2,610
11 B	0,931	0,857	4,280

Mittelwert aus 10 Versuchen
$3,921 \pm 0,22$ E/mgN

Tabelle 23

Übersicht über die Glycylglycin-Dipeptidasenaktivität im Liquor folliculi vom Schwein

a) kleine Follikel

Versuch	%Spaltung/ min	mgN/ml Enzymlösung	E/mgN
5 A	0,220	4,900	0,176
7 A	6,270	4,900	0,224
8 A	0,208	4,900	0,170
9 A	0,340	9,000	0,150
11 A	6,710	7,880	0,371
12 A	6,520	7,950	0,238

Mittelwert aus 6 Versuchen: 0,222 $\pm$ 0,093 E/mgN

b) große Follikel

Versuch	%Spaltung/ min	mgN/ml Enzymlösung	E/mgN
5 B	0,195	5,328	0,147
7 B	0,098	5,328	0,072
8 B	0,305	5,328	0,238
9 C	0,234	11,071	0,084
10 B	0,227	4,390	0,207
12 B	0,326	4,390	0,298

Mittelwert aus 6 Versuchen: 0,174 $\pm$ 0,089 E/mgN

Tabelle 24

Übersicht über die Glycylglycin-Dipeptidasenaktivität im Ovar des Menschen

a) Gesamtovar vom Menschen

Versuch	%Spaltung min	mgN/ml Enzymlösung	E/mgN
15 A	0,674	2,360	1,140
15 B	0,719	1,180	2,436
16 A	0,900	2,361	1,524
16 B	0,641	1,200	2,136
16 C	0,176	0,590	1,192

Mittelwert aus 5 Versuchen: 1,700 ± 0,576 E/mgN

b) Ovar von graviden Patientinnen bei Collum-Carcinom

Versuch	%Spaltung min	mgN/ml Enzymlösung	E/mgN
17 A_1	1,660	1,761	3,780
17 A_2	1,390	1,760	3,168
17 B_2	0,704	0,880	3,208
17 B_1	0,604	0,880	2,920

Mittelwert aus 4 Versuchen: 3,288 ± 0,340 E/mgN

c) Ovarialcarcinom (vorbehandelt mit Endoxan und Bestrahlung)

Versuch	%Spaltung min	mgN/ml Enzymlösung	E/mgN
20 A	2,82	2,184	5,160
20 B	1,26	1,090	4,616

Mittelwert aus 2 Versuchen: 4,89 ± 1,2 E/mgN

DISKUSSION

Durch unsere Untersuchungen haben wir nachweisen können, daß im Ovar des Menschen und im Ovar des Schweines Glycylglycin-Dipeptidase vorhanden ist.

Beim Schwein ist die Aktivität des Corpus luteum mit 3,92 E/mgN erheblich höher als in der Follikelflüssigkeit. Hier zeigt sich, daß kleinere Follikel eine etwas höhere Aktivität nämlich 0,222 E/mgN haben, als größere bei denen eine Dipeptidasen-Aktivität von 0,174 E/mgN nachgewiesen werden konnte. Die Aktivität im Corpus luteum ist signifikant höher als in den Follikeln, dagegen ist der Unterschied zwischen großen und kleinen Follikeln im Schweineovar nicht sicher signifikant.

Vergleicht man die Aktivität des Schweineovar mit Werten wie sie aus der Literatur für andere Organe angegeben werden, so ist die Größenordnung etwa gleich (20). Von Fuhrmann (12) wird z.B. für die Sekretionsphase des Endometrium eine Dipeptidasen-Aktivität von 2,06 E/mgN angegeben. Dieser Wert liegt etwas niedriger als unsere Ergebnisse im Corpus luteum des Schweines, aber höher als unsere Ergebnisse in der Follikelflüssigkeit. In der Proliferationsphase des menschlichen Endometrium ist die Dipeptidasen-Aktivität nach Fuhrmann mit 0,56 E/mgN etwas höher als im Corpus luteum des Schweines. Daraus können wir folgern, daß das Schweineovar Exopeptidasen enthält, die in ihrer Aktivität nicht auffällig höher sind als in anderen Organen.

Die Annahme von Jung, daß die hohe Endopeptidasen-Aktivität des Corpus luteum vom Schwein und vom Menschen eine besondere Bedeutung hat, wird durch dieses Ergebnis unterstützt, denn für Endopeptidasen konnten Jung und Mitarbeiter im Corpus luteum ja schon eine 10 mal so hohe Aktivität wie in anderen Organen nachweisen (20,24,25).

Auch die Ergebnisse, die beim Menschen auf Grund unserer Untersuchungen ermittelt wurden, wiesen darauf hin, daß die Exopeptidasen-Aktivität im menschlichen Ovar nicht besonders hoch ist. Dies gilt für Glycylglycin-Dipeptidase und wie Fuhrmann feststellte auch für Tripeptidasen (14). Im Gesamtovar des Menschen konnte nämlich mit 1,700 E/mgN eine Aktivität ermittelt werden, die in gleicher Höhe liegt, wie die von Fuhrmann ermittelten Werte für die Dipeptidasen des Endometrium.

Es ist sehr interessant, daß das Graviditäts-Ovar gegenüber dem normalen Ovar eine höhere Exopeptidase-Aktivität zeigt. Hier wurde nämlich ein Mittelwert von 3,288 E/mgN gemessen. Dieser Wert liegt signifikant über der Aktivität, die im normalen Gesamtovar gemessen werden konnte. Welche Ursache zu einem Aktivitäts-Anstieg im Schwangerschaftsovar führt, können wir nicht sagen.

In 2 Fällen konnte ovarielles Carcinom-Gewebe untersucht werden, das mit Endoxan vorbehandelt war. Hierbei fand sich noch eine höhere Aktivität der Dipeptidase als im Ovar bei Schwangerschaft, sodaß es sicher von großem Interesse ist, die Untersuchungen mit ovariellem Ca-Gewebe vor allem auch mit nicht behandeltem Carcinom fortzusetzen.

Wir sind der Auffassung, daß die Ergebnisse, die wir für die Glycylglycin-Dipeptidase bei unseren Untersuchungen messen konnten, ein weiterer Hinweis dafür sind, daß die hohe Endopeptidasen-Aktivität wie sie von Jung und Mitarbeitern im Corpus luteum des Schweines und des Menschen nachgewiesen wurde, hier eine besondere Aufgabe zu erfüllen hat, denn auch für andere Enzyme, nämlich für spezifische und unspezifische Phosphatasen konnte im Corpus luteum keine höhere Aktivität als in anderen Organen gemessen werden (21, 26). Da dies auch für die von uns untersuchten Dipeptidasen gilt, ist die Folgerung auf eine spezifische Aufgabe der Endopeptidasen im Ovar durchaus berechtigt.

ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der Arbeit wird über die bisher erfolgten Untersuchungen im Ovar berichtet. Außerdem werden die Eigenschaften und Nachweismethoden von Dipeptidasen besprochen. Über den Nachweis zur Bestimmung der Glycylglycin-Dipeptidase, die nach der Methode von Smith erfolgte, werden ausführliche Angaben gemacht. Eigene Untersuchungen haben ergeben, daß Glycylglycin-Dipeptidase sowohl im Schweineovar als auch im menschlichen Ovar vorhanden ist. Eine Aktivität dieses Enzyms konnte im Corpus luteum vom Schwein mit 3,92 E/mgN gemessen werden. Im Liquor folliculi fand sich ebenfalls Dipeptidasen-Aktivität. Diese war aber niedriger als im Corpus luteum. Für große Follikel wurde 0,147 E/mgN, für kleine Follikel 0,222 E/mgN gemessen.

Im Gesamtovar vom Menschen war die Aktivität mit 2,06 E/mgN niedriger als im Corpus luteum vom Schwein. Im Schwangerschaftsovar findet sich eine etwas höhere Aktivität als im normalen menschlichen Ovar. Sie beträgt hier 3,288 E/mgN.
Noch höhere Werte wurde für mit Endoxan vorbehandeltes Ovarial-Ca. gemessen.

In der Diskussion werden die Ergebnisse mit solchen aus der Literatur verglichen und es wird die Ansicht vertreten, daß durch diese Untersuchungen ein weiterer Hinweis auf eine spezifische Funktion der Endopeptidasen im Ovar erbracht wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BERGMANN M. and J.S.FRUTON: On Proteolytic Enzymes: Regarding the specifity of Aminopeptidase and Carboxypeptidase. A new Type of Enzyme in the intestinal Trad. J. Biol. Chem. 117, 189 (1937)

2. BINKLEY, F.: On the nature of Serine Dehydrase and Cysteine Desulfurase. J. Biol. Chem. 150, 261 (1943)

3. DEAN, H. W.: Histochemical obstervations on the ovary and oviduct of the albino sat during the estrons cycle. Amer. J. Anat. 91, 363 (1952)

4. ERPF-LEVKOVICS, Th. A. and ROSENBLOOM: Die Biochemie des weiblichen Genitales. Biochem. Bull. N. Y. 2, 233 (1913)

5. FORAKER, A. G., P. A. CELL and S. W. DENHAM: Dehydrogenase activity. I. In the ovary. Obstet. and Gynec. 2, 407 (1953)

6. FORAKER, A. G. and S. W. DENHAM: Neotetrazolium determination of succinic dehydrogenase activity in the ovary. Proc. soc. Exper. Biol. and Med. 80, 132 (1952)

7. FORAKER, A. G., S. W. DENHAM, M. R. JOHNSTON: Histochemical changes in irradiated ovaries. I. Succinic dehydrogenase activity. Arch. Path. Chicago 55, 147 (1953)

8. FORAKER, A. G., S. W. DENHAM and D. D. MITCHELL: Succinic dehydrogenase and endogenons reductase activity in the rat ovary in pregnancy. J. obst. and gynec. Brit. Emp. 62, 447 (1955)

9. FORAKER, A.G. and J. ZAMARRIEGO CRESPO: Amylophosphorylase and certain oxidative enzymes in the human ovary. Fertility and Sterility 12, 311 (1961)

10. FORAKER, A.G. and G. MARINO: Glycogen-synthesizing enzymes in the uterine cervix. Obst. a. Gynec. 17, 311 (1961)

11. FUHRMANN, K.: Kolorimetrische Bestimmung und histochemischer Nachweis der Aminopeptidase an Geweben weiblicher Genitalorgane. Zbl. Gynäk. 81, 1105 (1959)

12. FUHRMANN, K.: Über die Exopeptidasen des Endometrium . Arch. Gynäk. 191, 661 (1959)

13. FUHRMANN, K.: Über die Wirkung der Sexualhormone auf die Eiweiß-spaltenden Fermente der Uterusmuskulatur. Z. Geburtsh. 155, 12 (1960)

14. FUHRMANN, K.: Über die Endopeptidaseaktivität (Kathepsinkomplex) des Endometrium und anderer Gewebe weiblicher Genitalorgane. Z. Geburtsh. 154, 168 (1960)

15. FUHRMANN, K.: Hormone und Fermente des Endometrium . Gynaecologia 152, 1 (1961)

16. GRASSMANN, W. und H. MÜLLER: Amidasen. in: Flaschenträger-Lehnartz, Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch. Band I, S. 1100, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1951

17. GRASSMANN, W. und J. TRUPKE: Enzyme: Allgemeiner Teil. in: Flaschenträger-Lehnartz, Physiologische Chemie. Ein Lehr- und Handbuch.

Band I, S. 981, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1951

18. HELD, H.: Untersuchungen über Fermente in der Follikelflüssigkeit. Inaugural-Dissertation. Tübingen 1959

19. HOFFMANN-OSTENHOF, O.: Enzymologie. Wien: Springer 1954

20. JUNG, G.: Untersuchungen über proteolytische Enzyme des Ovariums. Habilitationsschrift. Tübingen 1962

21. JUNG, G.: Phosphatasen im Ovar. Vortrag auf der Tagung der Oberrheinischen Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie Baden-Baden 1962

22. JUNG, G.: Proteolytische Enzyme des menschlichen Eierstocks. Geburtsh. u. Frauenhlk. 22, 960 (1962)

23. JUNG, G. und H. HELD: Über Fermente in der Follikelflüssigkeit. Arch. Gynäk. 192, 146 (1959)

24. JUNG, G. und A. KIDESS: Proteolytische Fermente und Phosphatasen im Corpus rubrum und Corpus luteum von Schweineovarien. Arch. Gynäk. 196, 457 (1962)

25. JUNG, G. und E. KIDESS: Proteolytische Fermente im Ovargewebe. Arch. Gynäk. 192, 151 (1959)

26. JUNG, G. und M. SCHMID: Phosphatasen im klimakterischen Ovar. Nicht veröffentlicht.

27. JUNG, G.
und G. NÜSSLEIN:
Untersuchungen über proteolytische Enzyme in endokrinen Organen.
Endokrinologie 42, 137 (1962)

28. KIDESS, A.:
Untersuchungen über proteolytische Enzyme und Phosphatasen im Corpus rubrum und Corpus luteum vom Schwein.
Inaugural-Dissertation Tübingen 1961

29. KIDESS, E.:
Untersuchungen über Fermente im Ovargewebe.
Inaugural-Dissertation Tübingen 1960

30. KNOBLANCK, A.
und W. LEEB:
Über ein peptidspaltendes Enzym der Ovarien.
Biochem. Z. 29, 102 (1910)

31. KÖNIG, P.A.
und R. STIER:
Klinische, morphologische und histochemische Untersuchungen über den Fruchttod bei Tubargravidität.
Therapeutische Umschau 19, 331 (1962)

32. KÖNIG, P.A.
und B. UHSADEL:
Histotopochemie von Carbonsäure-Esterasen im menschlichen Ovar.
Arch. Gynäk. 197, 561 (1963)

33. KÖNIG, P.A.
und B.UHSADEL:
Funktion und Regression des Corpus luteum graviditatis in Morphologie und Histochemie.
Gynäkologia 154, 129 (1962)

34. LANG, K.
und G. SIEBERT:
Aufarbeitung von Gewebe und Zellen
in: Hoppe-Seyler/Thierfelder:
Handbuch der physiologisch und pathologisch-chemischen Analyse.
Bd. II, Teil 2, S. 537.
Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1955

35. LOEB, W.
und S. GUTMANN:
Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien.
Biochem. Z. 41, 445 (1912)

36. MOORE, St.
and W.H. STEIN:
Photometric ninhydrin method for ase in the chromatography of amino acids.
J. Biol. Chem. 176, 367 (1948)

37. MOORE, St. and W.H. STEIN: A modified ninhydrin reagent for the photometrie determination of amino acids and related compounds. J. Biol. Chem. 211, 907 (1954)

38. MOSS, S., T.H. WRENN and J. F. SYKES: Some histological and histochemical observations of the bovine ovary during the estrous cycle. Anat. Rec. 120, 409 (1954)

39. NEUMANN, K., G. OEHLERT und H. HAUSMANN: Histochemische Lokalisation des Enzyms Phosphoamidase im weibl. Genitaltrakt und Vaginalschleim. Z. Geburtsh. 141, 109 (1954)

40. PETRY, G.: Die Proteinasen im Liquor folliculi und ihre Bedeutung für den Follikelsprung. Fermentforschung 17, 2 (1948)

41. PETRY, G.: Die Ursache der Ovulation. Z. Geburtsh. 130, 236 (1949)

42. SMITH, E.L.: Dipeptidasen in: S.P. Colowick and N.O. Kaplan Methods in Enzymology Band II, S. 93 - 109 Academic Press inc., Publishen New York 1955

43. TACHIBAMA, T.: Investigations of ferments in the secretion of ovarian cysts. Report IV, Trypsine. Jap.J. Obstetr. 12, 182 (1929)

44. TACHIBAMA, T.: Investigations of ferments in the secretion of ovarian cysts. Report VI, Pepsine and ferments decomposing glycocoll and asparagin. Jap.J. Obstetr. 12, 200 (1929)

45. WIMSATT, W.S.: Glycogen, polysaccharide complexes and alkaline phosphatase in the ovary of the rat during hibernation and pregnancy. Anat. Rec. 103, 148 (1949)

46. SCHOCHET, S.S.: The Physiology of ovulation. Jurg. Gyn. Obstetr. 31, 148 (1920)

Hiermit möchte ich Herrn Oberarzt Dozent Dr. G. Jung für die freundliche Überlassung der Arbeit und seine wertvolle Unterstützung auf das Herzlichste danken.

Lebenslauf

Als Sohn des Kaufmanns Rostam Behrouzi und seiner Ehefrau Tabandeh wurde ich, Bouzardjomehr Behrouzi am 14. 5. 1936 in Kerman/Iran geboren. Ich gehöre der zoroastrischen Religion an.

1943 ging ich für drei Jahre in Kerman auf die Grundschule. 1946 zogen meine Eltern nach Teheran, wo ich weiterhin bis 1949 in die Grundschule ging. Ab 1949 bis 1952 besuchte ich die Firousbahram-, bis 1955 die Albourz-Oberschule, wo ich mein Abitur im Mai 1955 ablegte.

Ein Jahr lernte ich die deutsche Sprache und legte die entsprechende Prüfung ab. Im WS 56/57 begann ich als ordentlich Studierender an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen das Studium der Medizin.

Am 24. April 1959 legte ich das Physikum ab. Die klinischen Semester absolvierte ich in Tübingen, wobei ich im 2. klinischen Semester mit meiner Doktorarbeit begann. Das medizinische Staatsexamen legte ich am 18. 12. 1962 ab.
Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Ehingen/Donau tätig.